

附件 1

脑利钠肽/氨基末端脑利钠肽前体检测试剂注册技术审查指导原则

本指导原则旨在指导注册申请人对脑利钠肽/氨基末端脑利钠肽前体检测试剂注册申报资料的准备及撰写，同时也为技术审评部门对注册申报资料的技术审评提供参考。

本指导原则是对脑利钠肽/氨基末端脑利钠肽前体检测试剂的一般要求，申请人应依据产品的具体特性确定其中内容是否适用，若不适用，需具体阐述理由及相应的科学依据，并依据产品的具体特性对注册申报资料的内容进行充实和细化。

本指导原则是供申请人和审查人员使用的指导文件，不涉及注册审批等行政事项，亦不作为法规强制执行，如有能够满足法规要求的其他方法，也可以采用，但应提供详细的研究资料和验证资料。应在遵循相关法规的前提下使用本指导原则。

本指导原则是在现行法规、标准体系及当前认知水平下制定的，随着法规、标准体系的不断完善和科学技术的不断发展，本指导原则相关内容也将适时进行调整。

一、适用范围

脑利钠肽检测试剂是指利用抗原抗体反应的免疫学方法对人血浆、全血中的脑利钠肽（BNP）进行体外定量检测的试剂。

氨基末端脑利钠肽前体检测试剂是指利用抗原抗体反应的免疫学方法对人血浆、全血、血清中的氨基末端脑利钠肽前体

(NT-proBNP) 进行体外定量检测的试剂。

本指导原则适用于以酶标记、(电)化学发光标记、(时间分辨)荧光标记等标记方法,以微孔板、管、磁颗粒、微珠和塑料珠等为载体的定量检测 BNP/NT-proBNP 的免疫分析试剂,不适用于以各类胶体金标记的检测试纸和以 ^{125}I 等放射性同位素标记的各类放射免疫或免疫放射试剂。

根据《体外诊断试剂注册管理办法》(国家食品药品监督管理总局令第 5 号)、《体外诊断试剂注册管理办法修正案》(国家食品药品监督管理总局令第 30 号)和《食品药品监管总局关于印发体外诊断试剂分类子目录的通知》(食药监械管〔2013〕242 号),脑利钠肽/氨基末端脑利钠肽前体检测试剂管理类别为 II 类,分类编码为 6840。

二、注册申报资料要求

(一) 综述资料

脑利钠肽(BNP)是一种与心房钠尿肽(ANP)功能类似的神经激素类物质,具有促尿排钠并抵制交感神经活性的作用,与心房钠尿肽组织在学分布及氨基酸组成等方面却存在着较大差异,故被作为另一种物质,命名为 BNP。

一系列研究发现:人体内的 BNP 是由 BNP 氨基酸前体蛋白(proBNP)的 C 端裂解得到,而其 N 端则裂解形成仅有 76 个氨基酸的 NT-proBNP 即氨基末端脑利钠肽前体。

BNP 及 NT-proBNP 的基因差异很大,主要表现在两者在体内的清除途径、半衰期等存在明显的差异。

BNP 及 NT-proBNP 在体内主要通过肝肾清除。BNP 的消除主要通过三种方式:一是与利钠肽受体 C 在受体介导下相互结

合后被清除；二是被中性肽链内切酶切割而清除；三是通过被动排泄被体内的肾脏排泄清除。而相对于 BNP 来说 NT-proBNP 在体内并无上述前两种主动清除机制，仅能被限制在高血流量的器官内，通过肾小球滤过的形式被动清除，因此在体内存留时间更长，更易于检测。

BNP 及 NT-proBNP 生物活性也不同。BNP 因具有一个特征性的氨基酸环，具有重要的生物活性，但在体内的半衰期较短，仅有 18—22 分钟；而 NT-proBNP 为直线形结构，无生物活性，在体内半衰期较长，约 120 分钟，且存在量不受体位及日常活动等因素的影响，含量稳定。

由于 BNP 和 NT-proBNP 主要是由左心室心肌细胞合成，在体内等摩尔数产生后分泌进入血液，两者都可以作为一种有效的心衰标志物，可单独地预示心室压力增高状况，对于充血性心力衰竭及其引发的呼吸困难并发症，原发性高血压及其评价左心室功能障碍等心血管相关疾病的辅助诊断及治疗评估监测具有重要价值。

综述资料主要包括产品预期用途、产品描述、有关生物安全性的说明、产品主要研究结果的总结和评价以及同类产品上市情况介绍等内容，其中同类产品上市情况介绍部分应着重从方法学、检出限、线性范围、准确度、参考区间及临床适用范围等方面写明拟申报产品与目前市场上已获批准的同类产品之间的主要区别。综述资料作为注册申报资料的重要组成部分之一，其内容应符合《体外诊断试剂注册管理办法》（国家食品药品监督管理总局令第 5 号）和《关于公布体外诊断试剂注册申报资料要求和批准证明文件格式的公告》（国家食品药品监督管理总局公告 2014

年第 44 号) 的相关要求。

申请人提交的材料应至少包含以下几方面内容：

1. 脑利钠肽/氨基末端脑利钠肽前体的生物学特征、结构与功能、在体内正常和病理状态下的代谢途径和存在形式。

2. 脑利钠肽/氨基末端脑利钠肽前体检测所适用的疾病情况、脑利钠肽与心功能分级的相关情况。

(二) 主要原材料研究资料 (如需要提供)

应提供主要原材料如抗体、标记物、固相载体、校准品、质控品 (如适用) 等的选择、制备及其质量标准等的研究资料。如主要原材料为企业自己生产, 其生产工艺应稳定; 如主要原材料源于外购, 应提供的资料包括: 选择该原材料的依据及筛选试验资料、供货方提供的质量标准、出厂检验报告, 以及该原材料到货后的质量检验资料。

主要原材料的研究资料具体要求如下:

1. 脑利钠肽/氨基末端脑利钠肽前体检测试剂主要原材料的研究资料应包括以下内容。

NT-proBNP 单克隆抗体的分析研究应包括: 抗体纯度、抗体特异性等内容。

BNP 单克隆抗体的分析研究应包括: 抗体纯度、抗体特异性等内容。且由于 **BNP** 分子量约 3.5kDa, 蛋白分子较小, 是半抗原, 没有免疫原性, 不能直接免疫小鼠制备抗体, 在制备该抗体时应充分考虑以上问题。

2. 校准品和质控品 (如有) 的原料选择、制备、定值过程及试验资料, 校准品的溯源性文件。

3. 申请人应根据 GB/T 21415—2008/ISO 17511:2003《体外诊

断医疗器械生物样品中量的测量 校准品和控制物质赋值的计量学溯源性》提供所用校准品的来源、赋值过程和相应指标、以及不确定度等内容。明确校准品的质量标准并提供校准品的溯源性文件。

(三) 主要生产工艺及反应体系的研究资料 (如需要提供) 应包括以下内容 (以下内容可根据具体的方法学特点进行编写):

1. 主要生产工艺介绍, 可以流程图方式表示, 并标明关键工艺质控步骤, 简要说明主要生产工艺的确定依据。

2. 产品反应原理介绍。

3. 抗体包被工艺研究: 申请人应考虑如包被缓冲液种类及添加量、浓度、包被时间、干燥温度及时间 (如适用) 等指标对产品性能的影响, 通过试验确定上述指标的最佳组合。

4. 反应条件确定: 申请人应考虑反应模式、反应时间、反应温度、洗涤次数 (如适用) 等条件对产品性能的影响, 通过试验确定上述条件的最佳组合。

5. 不同适用机型的反应条件如果有差异应分别详述。

6. 体系中样本及试剂的加样方式及添加量确定: 申请人应考虑样本加样方式、加样量以及试剂添加顺序、添加量对产品检测结果的影响, 通过实验确定最佳的样本及试剂的添加方式和添加量。如样本需采取稀释或其他必要的方法进行处理后方可用于最终检测, 申请人还应对可用于样本稀释的基质或处理方法进行研究 (如适用), 通过试验确定样本稀释基质或处理方法。确定反应所需其他试剂用量 (标准品、标记物、底物等) 的研究资料。

7. 固相载体、信号放大系统、显色 (发光) 系统、酶作用底

物等的介绍及研究资料。

（四）分析性能评估资料

申请人应提交产品研制阶段对试剂进行的所有性能验证的研究资料，对于每项分析性能的评价都应包括具体研究方法、可接受标准、试验数据、统计分析等详细资料。有关分析性能验证的背景信息也应在申报资料中有所体现，包括实验地点、适用仪器、试剂规格、批号、样本来源等。建议选择多批产品对以下分析性能进行研究，性能评估时应将试剂和所选用的校准品、质控品作为一个整体进行评价，评估整个系统的性能是否符合要求。具体研究方法建议参照相关国际或国内有关体外诊断产品性能评估的文件进行。

1. 检出限

检出限的确定方法可参考国际或国内有关体外诊断产品性能评估的文件，申请人应提供空白限的确定方法。

检出限验证方法：

对 5 份浓度近似空白限（LOD）的低值样本进行检测，每份样本检测 5 次，对检测结果按照大小进行排序，符合如下条件，即可认为所提供的空白限和检出限的设置基本合理。

1.1 低于所提供的空白限数值的检测结果的数量应小于等于 3 个；

1.2 适用时，无高于所提供的参考区间下限的检测结果。

2. 准确度

对测量准确度的评价方法依次包括：相对偏差、比对试验、回收试验等方法，因该项目目前尚无相应的国家（国际）标准品，建议申请人优先采用回收试验的方法，申请人也可根据实际情况

选择其他合理方法进行研究。

2.1 相对偏差

2.1.1 用可用于评价常规方法的有证参考物质 (CRM) 或其他公认的参考物质作为样本进行检测, 根据申请人提供的试剂盒线性区间, 将能用于评价常规方法的参考物质作为样本, 合理设置 2—3 个浓度, 按照待测试剂盒说明书的步骤进行检测, 每个样本重复测定 3 次, 测试结果记为 (X_i), 按公式 (1) 分别计算相对偏差 (B_i), 如果 3 次结果都符合要求, 即判为合格。如果大于等于 2 次的结果不符合, 即判为不合格。如果有 1 次结果不符合要求, 则应重新连续测试 20 次, 并分别按照公式 (1) 计算相对偏差, 如果大于等于 19 次测试的结果符合的要求, 即判为合格。

$$B_i = (X_i - T) / T \times 100\% \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

B_i —相对偏差;

X_i —测量浓度;

T—标定浓度。

2.1.2 企业参考品测试

由申请人提供企业参考品, 按照常规样本进行检测, 每份样本测定 3 次, 测试结果记为 (X_i), 按公式 (1) 分别计算相对偏差 (B_i)。

2.2 比对试验

取不少于 40 个合理分布在线性区间内不同浓度的人体样本, 与指定的分析系统进行比对试验。每个样本按待测试剂盒及选定分析系统的要求分别进行检测, 每个样本测定 1 遍, 用线性

回归方法对两组结果进行线性拟合，得到线性回归方程的相关系数（ r ）和斜率。计算各个样本的待测试剂盒测定值与对照系统测定值的绝对偏差或相对偏差。

注：如样本不稳定，一份样本宜在两个系统同时进行检测。

2.3 回收实验

选择合适浓度的常规检测样本，分为体积相同的 3—4 份。在其中 2—3 份样本中加入不同浓度相同体积的待测物标准液或纯品制备待回收分析样本，加入体积小于原体积的 10%，制成 2—3 个不同加入浓度的待回收分析样本，计算加入的待测物的浓度。在另一份样本中加入同样体积的无待测物的溶剂，制成基础样本。用待评价系统分别重复测定待回收分析样本和基础样本 3 次，计算回收率。

2.3.1 加入浓度 $n = \text{标准液浓度 } n \times [\text{标准液加入体积} / (\text{样本体积} + \text{标准液体积})]$

2.3.2 计算回收率：

$$\text{回收率 } n = \frac{\text{测定待回收分析样本浓度均值 } n - \text{测定基础样本浓度均值}}{\text{加入浓度 } n} \times 100\%$$

2.3.3 计算平均回收率：

$$\text{平均回收率} = \frac{(\text{回收率 } 1 + \text{回收率 } 2 + \dots + \text{回收率 } n)}{n} \times 100\%$$

2.3.4 计算每个样本回收率与平均回收率的差值：

每个样本回收率与平均回收率的差值 = 回收率 n - 平均回收率

如差值超过 $\pm 10\%$ ，应查找原因并纠正，重新进行评估。

2.3.5 计算比例系统误差：

比例系统误差 = |100% - 平均回收率|

2.3.6 结果评估：

结果应满足预期值，同时满足临床需求。

2.3.7 回收试验注意事项：

2.3.7.1 加入的待测物标准液体积一般在样本体积的 10% 以内，如果高浓度的待测物标准液不易得到，加入体积亦不得超过原样本体积的 20%。

加入的待测物标准液体积量不应影响样本基质；并且保证在加样过程中的取样准确度。

2.3.7.2 加入的溶剂应不影响对待测物的测定。

2.3.7.3 保证总浓度在系统分析测量范围内，尽量使加入标准液后样本中的被测物浓度达到医学决定水平。

2.3.7.4 因待测物标准液溶液加入体积不到 10%，为保证得到不同浓度的待回收分析样本，标准液的浓度应该足够高。

3. 线性范围

线性范围的建立方法可参考国际国内有关体外诊断产品性能评估的文件进行，建立方法简述如下：

建立试剂线性范围所用的样本基质应尽可能与临床实际检测的样本相似，理想的样本为分析物浓度接近预期测定上限的混合样本，且应充分考虑多倍稀释对样本基质的影响。建立一种定量测定方法的线性范围时，需在预期测定范围内选择 7—11 个浓度水平，每个浓度水平重复测定 2—4 次。如申请人希望有更多的测量点（比预期的线性范围宽 20%—30%），这样能检测到“拐点”，然后依据实验结果逐渐减少数据点直至表现出线性关系，可发现最宽的线性范围。

验证线性范围时可选择 5—7 个浓度水平，将接近线性区间上限的高值样本按一定比例稀释为至少 5 个浓度，其中低值浓度的样本须接近线性区间的下限。对每一浓度的样本至少重复测定 2 次，计算其平均值，将测定浓度的平均值与理论浓度或稀释比例用最小二乘法进行直线拟合，并计算线性相关系数 r 。

4. 精密度

精密度的评价方法可根据不同产品特征或申请人的研究习惯进行，但必须保证研究的科学合理性，具体实验方法可以参考国际或国内有关体外诊断产品性能评估的文件进行。申请人应对每项精密度指标的评价标准做出合理要求，如标准差或变异系数的范围等。

针对本类产品的精密度评价主要包括以下要求：

4.1 质控品的选取：精密度的评估应使用 2—3 个浓度水平的质控品进行测定，质控品浓度包括医学决定水平（Cut-off 值）附近的浓度值和中高浓度值。

4.2 批内不精密度：用同一批号试剂盒，对不同浓度的质控品分别重复测定 10 次，计算 10 次测定结果的平均值 (\bar{x}) 和标准差 (S)，根据公式 (2) 得出变异系数 (CV)。

$$CV=S/\bar{x} \times 100\% \dots\dots\dots (2)$$

式中：

CV—变异系数；

S—10 次测量结果的标准差；

\bar{x} —10 次测量结果的平均值。

批间不精密度：用三个不同批号试剂盒，对不同浓度的质控品分别重复测定 10 次，计算每个浓度样本 30 次测量结果的平均值

(\bar{x}) 和标准差 (S), 根据公式 (3) 得出变异系数 (CV)。

$$CV=S/\bar{x} \times 100\% \dots\dots\dots (3)$$

式中:

CV—变异系数;

S—30次测量结果的标准差;

\bar{x} —30次测量结果的平均值。

注: 可参考国际或国内有关体外诊断产品性能评估的文件相关要求选取适宜的方法进行试验。

5.分析特异性

5.1 交叉反应

易产生交叉反应的其他抗原、抗体等的验证情况, 应至少包括结构类似物 ANP、CNP、血管紧张素、肾上腺素作为脑利钠肽 (BNP) /氨基末端脑利钠肽前体 (NT-proBNP) 检测试剂交叉反应验证的物质。交叉反应验证物质的浓度分布应覆盖人体生理及病理状态下可能出现的物质浓度。

5.2 干扰物质

潜在的干扰物质主要包括(以下结果应量化表示, 禁用轻度、严重的模糊表述):

5.2.1 内源性干扰

应明确已知干扰因素对测定结果的影响: 可采用回收实验(如适用) 对不同浓度的血红蛋白、胆红素、甘油三酯、类风湿因子、嗜异性抗体对检测结果的影响进行评价, 干扰物浓度的分布应覆盖人体生理及病理状态下可能出现的物质浓度, 待评价的 BNP/NT-proBNP 样本浓度至少应包含生理、病理 2 个水平, 选

取线性范围内有临床代表性意义的浓度。

5.2.2 样本添加剂的干扰

如果试剂盒适用样本类型包括血浆/全血样本，应对各种适用抗凝剂进行检测，如 EDTA、枸橼酸钠、肝素等。方法为对脑利钠肽（BNP）/氨基末端脑利钠肽前体（NT-proBNP）检测试剂检测阴性、弱阳性（临界浓度）的临床或模拟添加样本分别进行验证，样本量选择应体现一定的统计学意义，说明样本的制备方法及其干扰实验的评价标准，确定可接受的干扰物质极限浓度。

5.2.3 处方及非处方药的干扰

所选取的药物可包含治疗心衰的常用药，如：利尿剂、血管紧张素转换酶抑制剂（ACEI）/血管紧张素 II 受体拮抗剂（ARB）、 β 受体阻滞剂、醛固酮受体拮抗剂和血管紧张素受体脑啡肽酶抑制剂（ARNi）。药物干扰的研究可根据需要由申请人选择何种药物进行研究，药物浓度应结合临床实际用药情况。

6. 校准品及质控品（如适用）

参照 GB/T 21415—2008《体外诊断医疗器械生物样品中量的测量校准品和控制物质赋值的计量学溯源性》的要求，提供企业（工作）校准品及试剂盒配套校准品的溯源、赋值过程以及测量不确定度相关资料，提供质控品赋值及其靶值范围确定的相关资料。同时，应对校准品、质控品的赋值结果的瓶内均匀性、瓶间均匀性以及其赋值结果的准确度进行评价。如校准品或质控品的基质不同于临床常用样本类型，还应提交基质效应的相关研究资料。

7. 钩状（Hook）效应（如适用）：说明不会产生 Hook 效应的浓度上限或相关研究，如需稀释，应注明对稀释液的要求、最

佳或最大稀释比例。每个浓度重复 3 份，对钩状效应进行合理的验证。建议在产品说明书上明示对钩状效应的研究结果。

8.其他需注意问题

对于适用多个机型的产品，应提供产品说明书【适用仪器】项中所列的所有型号仪器的性能评估资料。如产品涉及不同包装规格，则需要提供每个包装规格在不同型号仪器上的评估资料；如不同的包装规格产品间存在性能差异，需要提交采用每个包装规格产品进行的上述项目评估的试验资料及总结。如不同包装规格之间不存在性能差异，需要提交包装规格之间不存在性能差异的详细说明，具体说明不同包装规格之间的差别及可能产生的影响。

试剂盒的测试样本类型如包括血清和血浆样本，则应对二者进行相关性研究以确认二者检测结果是否完全一致或存在某种相关性（如系数关系）。试剂盒的测试样本类型如包括血浆和全血样本，则应对二者进行相关性研究以确认二者检测结果是否完全一致或存在某种相关性（如系数关系）。

（五）参考区间确定资料

应提交建立参考区间所采用样本来源及详细的试验资料。应明确参考人群的筛选标准，研究各组（如性别、年龄等）例数应符合统计学要求。建议参考国际或国内有关体外诊断产品参考区间确定的文件。

若引用 BNP/NT-proBNP 临床应用的专家共识或其他针对中国人群参考区间研究的相关文献，应明确说明出处，并进行验证。验证样本应不少于 120 例，样本来源应至少考虑不同年龄、性别因素，尽可能考虑样本来源的多样性、代表性。研究结果应在说

说明书【参考区间】项中进行相应说明。

BNP 在人体内的半衰期为 22 分钟，体外室温下稳定性为 2—8 小时，而 NT-proBNP 在人体内的半衰期为 120 分钟，体外室温下稳定性为大于 72 小时。在研究过程中应根据以上两种物质特点，对分析前应考虑的两个因素予以考虑，即生物学因素和方法学因素。生物学因素包括代谢和血液动力学，方法学因素包括样本收集和处置等。

（六）稳定性研究资料

稳定性研究资料主要涉及两部分内容，申报试剂的稳定性和适用样本的稳定性研究。

试剂的稳定性主要包括实时稳定性研究，以及试剂开瓶稳定性（如适用）、复溶稳定性（如适用）、运输稳定性及冻融次数限制（如适用）等研究，申请人可根据实际需要选择合理的稳定性研究方案。稳定性研究资料应包括研究方法的确定依据、具体的实施方案、详细的研究数据以及结论。对于实时稳定性研究，应提供至少三批样品在实际储存条件下保存至成品有效期后的研究资料。

适用样本的稳定性主要包括室温（10—30℃）保存、冷藏（2—8℃）和冷冻（-20℃）条件下的有效性验证，可以在合理的温度范围内选择温度点（温度范围），每间隔一定的时间段对储存样本进行稳定性验证，从而确认不同类型样本的保存稳定性。适于冷冻保存的样本还应对冻融次数进行评价。

由于各企业的原料选择、工艺过程的不同，BNP 在体外室温稳定性也不尽相同，应提交相关研究资料。

试剂稳定性和样本稳定性两部分内容的研究结果应在说明书

【储存条件及有效期】和【样本要求】两项中分别进行详细说明。

（七）临床评价资料

此项目已经列入《关于新修订免于进行临床试验医疗器械目录的通告》（国家药品监督管理局通告 2018 年第 94 号）中免于进行临床试验的体外诊断试剂目录。根据体外诊断试剂临床评价的相关要求，申请人可按照《免于进行临床试验的体外诊断试剂临床评价资料基本要求（试行）》（国家食品药品监督管理总局通告 2017 年第 179 号）要求进行临床评价。如无法按要求进行临床评价，应进行临床试验。

1.临床评价途径

临床评价的开展、临床评估方案的制定以及临床评价报告的撰写等均应符合相关法规及《免于进行临床试验的体外诊断试剂临床评价资料基本要求（试行）》（国家食品药品监督管理总局通告 2017 年第 179 号）的要求。下面仅对临床评价中的基本问题进行阐述。

1.1 临床评价途径的选择

申请人应当根据申报产品的具体情况建立适应的评价方法，充分考虑产品的预期用途，开展具有针对性的评价研究，可以选择以下两种评价途径之一。

1.1.1 与境内已上市同类产品进行比较研究试验，证明两者具有等效性。应选择目前临床普遍认为质量较好的产品作为对比试剂，同时应充分了解对比试剂的技术信息，包括方法学、临床预期用途、主要性能指标、校准品的溯源情况、推荐的参考区间等。应尽量选择方法学相同，线性范围、精密度、参考区间等性能接近的同类产品作为对比试剂，如方法学不同，则应首选方法

学性能较高的对比试剂进行试验。应提供已上市产品的境内注册信息及说明书。

1.1.2 与参考方法进行比较研究试验，考察待评价试剂与参考方法的符合率/一致性。

1.2 检测地点的选择及要求

1.2.1 申请人可根据产品特点自行选择试验地点完成样本检测，检测地点的设施、试验设备、环境等应能够满足产品检测要求。

1.2.2 如选择与参考方法进行比较研究试验，应选择参考实验室进行研究，参考实验室应具有中国合格评定国家认可委员会（CNAS）认可的相关检测资质。

1.3 临床评估方案

申请人应在试验前，从流行病学、统计学、临床医学、检验医学等多方面考虑，设计科学合理的临床评估方案并遵照执行。

如选择与境内已上市同类产品进行比较研究试验途径，试验方案中还应明确两种试剂检测结果不一致的判定依据，以及结果不一致样本复核的方法。

1.4 试验方法

试验方法的建立可参考相关方法学比对的指导原则（如：《体外诊断试剂分析性能评估（准确度-方法学比对）技术审查指导原则》），并重点关注以下内容：

1.4.1 样本要求

1.4.1.1 选择涵盖预期用途和干扰因素的样本进行评价研究，充分考虑试验人群选择、疾病选择等内容，应考虑到年龄、性别的差异，尽量覆盖各类适用人群。样本应能够充分评价产品临床

使用的安全性、有效性。

1.4.1.2 样本含量应采用合理的统计学方法进行计算,应符合统计学要求。样本浓度应覆盖待评价试剂检测范围,尽可能均匀分布。

可选择总样本量不少于 40 例并分别采用待评价试剂和对比试剂/参考方法进行双份测定的方式,其中参考区间以外样本应不少于 50%,亦可选择总样本量不少于 100 例并分别采用待评价试剂和对比试剂/参考方法进行单次测定的方式。样本的测定值应在测量范围内。

试验前应设定临床评价性能指标的可接受标准,如果比较研究试验结果无法达到预设标准,则应适当扩大样本量进行评价。

1.4.1.3 应注重医学决定水平量值附近样本的选择,并涵盖检测范围。因脑利钠肽(BNP)/氨基末端脑利钠肽前体(NT-proBNP)检测试剂产品受年龄、性别等多生理学因素的影响,建议进行分层统计,申请人应结合实际情况选择适当的样本量进行充分的临床评价。

1.4.1.4 应明确临床样本的采集要求。

应明确抗凝剂的要求、存贮条件、可否冻融、干扰物质的影响等要求及避免使用的样本。试验中,尽可能使用新鲜样本,避免贮存。如无法避免使用贮存样本时,注明贮存条件及时间,在数据分析时应考虑其影响。

BNP 检测项目应在其说明书声称的检测时间内完成检测。

1.4.1.5 评价用的样本类型应与注册申请保持一致。对于具有可比性的不同样本类型,如血清和血浆样本,血浆和全血样本可在分析性能评估中对样本适用性进行研究,或在临床评价中对每

种样本类型分别进行符合统计学意义数量的评估。

1.4.2 试验要点

1.4.2.1 在试验操作的过程中应采用盲法。待评价试剂和对比试剂/参考方法应平行操作，整个试验应有内部质量控制。

1.4.2.2 建议本产品试验检测周期至少 5 天，以客观反映实际情况。

1.4.2.3 扩大样本量和延长试验时间将提高试验的可靠性，申请人应选择适当的样本量进行充分的临床评价。

1.4.3 数据收集和处理

1.4.3.1 应首先进行离群值观察，离群值的个数不得超过限值。若未超限，可删除离群值后进行分析；若超出限值，则需合理分析原因并考虑纠正措施，必要时重新收集样本进行分析。离群值分析和处理方法应有依据。

申请人应根据产品特点选择合适的统计学方法，建议进行相关性分析，给出相关系数，进行回归分析给出回归方程和试验数据的散点图，并对相关系数和回归方程的斜率进行显著性分析。结合试验数据的正/偏态分布情况，选择合理的统计学方法进行分析，统计结果应能证实待评价试剂相对于对比试剂/参考方法检测结果无明显偏差或偏差在允许误差范围内。另外，在临床评估方案中应明确统计检验假设。

具体数据分析方法如下：

用回归分析验证两种试剂结果的相关性，以 $y=a+bx$ 和 R^2 的形式给出回归分析的拟合方程，其中： y 是待评价试剂结果， x 是对比试剂结果， b 是方程斜率， a 是 y 轴截距， R^2 是决定系数，同时应给出 b 的 95%（或 99%）置信区间，定量值结果应

无统计学差异。

建议给出待评价试剂对比试剂之间的差值(偏差)及比值(偏差)散点图。

如产品适用不同的具有可比性的样本类型,如选择在临床评价中对每种样本类型分别进行评估,则考虑到对不同样本类型的检测结果可能存在一定差异,故建议对不同样本类型分别进行统计分析,以对待评价试剂的临床性能进行综合分析。

1.5 临床评价报告

临床评价报告应对试验设计、试验实施情况和数据分析方法等进行清晰的描述。应至少包括如下内容:

1.5.1 基本信息,如产品名称、申请人名称及联系方式、试验时间及地点等。

1.5.2 试验设计,详细说明对比试剂/方法选择、样本入组和排除标准、样本量要求、设盲要求、统计分析方法的选择等内容。

1.5.3 试验实施情况,具体包括:

1.5.3.1 样本选择情况,包括例数、样本分布等。样本含量应详细说明计算方法及依据。

1.5.3.2 临床评价所用产品信息,如评价用试剂、对比试剂/方法、配合使用的其他试剂/仪器的产品名称、生产企业、规格/型号、批号等。

1.5.3.3 实验过程描述。

1.5.3.4 试验管理,包括参加人员、质量控制情况、数据管理、出现的问题及处理措施等。

1.5.3.5 数据分析及评价结果总结,根据确定的统计方法对检测数据进行统计分析,对产品的临床性能进行合理评价。

1.5.3.6 评价数据表

应以附件形式对入组的样本情况进行汇总描述，应至少包括以下内容：可溯源样本编号、样本基本信息、样本类型、评价用试剂和对比试剂/方法检测结果、样本临床背景信息或临床诊断信息（如适用）等。

1.5.3.7 评价报告应由申请人/代理人签章。

1.6 其他评价资料

除以上临床评价报告外，对拟申报产品临床性能进行评价的相关文献，可作为补充临床评价资料提交。应参照《医疗器械临床评价技术指导原则》的文献检索要求进行文献的检索、筛选和分析。

2. 临床试验途径

临床试验的开展、方案的制定以及报告的撰写等均应符合相关法规及《体外诊断试剂临床试验技术指导原则》的要求。

（八）产品风险分析资料

主要参考 YY/T0316—2016《医疗器械 风险管理对医疗器械的应用》。风险管理活动要贯穿产品设计、生产、上市后使用及产品处理的整个生命周期。要体现申请人风险管理活动计划的完整性，尤其上市管理的风险分析与评价过程。对于上市前风险管理中尚未认知的风险，应在上市后开展信息收集，一旦发现异常及时进行风险评价，采取控制措施，更新风险管理文件。

脑利钠肽/氨基末端脑利钠肽前体检测试剂风险分析应参考 YY/T0316—2016 行业标准相关要求，逐一进行回答，也可以用列表的方式列示。剩余风险分析时，一定要确认逐一采取风险控制措施后，是否会引入或造成更大的风险，只有新引入风险能转

化为可接受风险，方能认为风险受控。脑利钠肽/氨基末端脑利钠肽前体检测试剂必须进行风险与受益分析，受益大于风险时方可接受。

提供脑利钠肽/氨基末端脑利钠肽前体检测试剂产品上市前风险管理报告，此报告旨在说明并承诺：

—风险管理计划已被正确地实施。

—综合剩余风险是可接受的。

—已有恰当方法获得与申请人申报的脑利钠肽/氨基末端脑利钠肽前体检测试剂产品相关和出厂后流通与临床应用的信息。

应随风险管理报告一并附上包括风险分析、风险评价、风险控制概述管理资料。至少应包括：

—产品安全特征清单。

—产品可预见危害及分析清单(说明危害、可预见事件序列、危害处境和可能发生的损害之间的关系)。

—风险评价、风险控制措施以及剩余风险评价汇报表。

对于风险分析和管理概述，应包括一份风险总结，以及如何将风险控制在可接受程度的内容。从预期用途、可能的使用错误、与安全性有关的特征、已知和可预见的危害等方面，对产品进行全面分析并阐述相应的防范措施。

1. 风险分析方法

1.1 在对风险的判定及分析中，要考虑合理的可预见的情况，包括：正常使用条件下和非正常使用条件下。

1.2 风险判定及分析应包括：对于患者的危害、对于操作者的危害和对于环境的危害。

1.3 风险形成的初始原因应包括：人为因素，产品组成成分

的危害，原材料危害，综合危害，环境条件。

1.4 风险判定及分析考虑的问题包括：脑利钠肽/氨基末端脑利钠肽前体检测试剂原材料生物学危害；产品质量是否会导致使用中出現不正常结果；操作信息，包括警示性语言、注意事项以及使用方法的准确性；使用过程可能存在的危害等。

2.风险分析清单

脑利钠肽/氨基末端脑利钠肽前体检测试剂产品的风险管理报告应符合 YY/T 0316—2016 的有关要求，审查要点包括：

2.1 产品定量分析是否准确（依据 YY/T 0316—2016 附录 C）；

2.2 危害分析是否全面（依据 YY/T 0316—2016 附录 H）；

2.3 风险可接收准则，降低风险的措施及采取措施后风险的可接收程度，是否有新的风险产生。

根据 YY/T 0316—2016 附录 H 对该产品已知或可预见的风险进行判定，脑利钠肽/氨基末端脑利钠肽前体检测试剂产品在进行风险分析时至少应包括对以下主要危害的风险分析，申请人还应根据自身产品特点确定其他危害。针对产品的各项风险，申请人应采取应对措施，确保风险降到可接受的程度。

表 1 产品的主要危害（举例）

危害类型	可预见的事件及事件序列	危害处境	产生的后果或损坏	采取的措施
生物学危害	生物污染	产品中污染有病原微生物	微生物污染可引起产品的严重检测错误、可能导致操作人员感染	对生产过程中的过滤、分装等环节进行严格控制，严格按照各工序标准操作规程进行操作；对生物源材料病原微生物进行控制
	由于废物和（或）医疗器械处置的污染	不正确的废物处理	有可能造成污染环境	严格按照使用说明书中的规定进行操作
化学危害	毒性	皮肤直接接触产品	导致操作人员中毒	严格按照各工序标准操作规程及使用说明书中的规定进行操作
	降解	不正当的操作	降解可导致产品检测灵敏度降低	严格按照各工序标准操作规程进行操作
操作危害	不适当的标记	操作人员的错误操作	可引起检测错误	严格按照使用说明书中的规定进行操作
	不适当的操作说明	说明书的不精确描述	可引起检测错误	严格按照使用说明书中的规定进行操作
	由不熟练、未经培训的人员使用	操作人员的错误操作	可引起检测错误	严格按照使用说明书中的规定进行操作
	错误或判断错误	操作人员的错误操作	可引起检测错误	严格按照使用说明书中的规定进行操作
	使用者未使用试剂盒内配备的样本稀释液和质控品（如适用）	样本加样过程操作不当或质控品使用差错误	可引起检测错误	说明书中应有详细的样本稀释及加样要求和质控品的使用方法

危害类型	可预见的事件及事件序列	危害处境	产生的后果或损坏	采取的措施
信息危害	失误和认知检索错误	操作人员的错误操作	可引起检测错误	严格按照使用说明书中的规定进行操作
	疏忽和出错	操作人员的错误操作	可引起检测错误	严格按照使用说明书中的规定进行操作
	违反或缩减说明书、程序等	操作人员的错误操作	可引起检测错误	严格按照使用说明书中的规定进行操作
	对医疗器械寿命中止缺少适当的决定	说明书的不精确描述	可引起检测错误	完善说明书中使用说明
	说明书中对试剂的使用条件没有描述；适用的血浆样本所采用的抗凝剂没有明确要求	操作者未能在要求的环境下进行正确的操作	可引起检测错误	说明书中对产品适合的使用条件有描述；明确本试剂适合的抗凝剂种类
功能性失效的危害	不适当的包装	操作人员的错误操作	造成产品降解、污染，使产品性能降低	严格按照使用说明书中的规定进行操作
	产品标识不恰当	产品标识不恰当，直接影响产品的运输储存和检测结果	产品失效	在产品标签样稿中，对产品标识包括包装盒（中包装）标识盒运输贮存标识做出详细规定，各种标识设置符合法规的规定，并随着法规的更新及时进行修改和完善

由于脑利钠肽/氨基末端脑利钠肽前体检测试剂的功能和结构的差异，本章给出的风险要素及其示例是常见的而不是全部的。上述部分只是风险管理过程的组成部分，不是风险管理的全部。申请人应按照 YY/T 0316—2016 中规定的过程和方法，在产品整个生命周期内建立、形成文件和保持一个持续的过程，用以判定与医疗器械有关的危害、估计和评价相关的风险、控制这些风险并监视上述控制的有效性，以充分保证产品的安全和有效。

（九）产品技术要求

拟定产品技术要求应符合《体外诊断试剂注册管理办法》、《关于公布体外诊断试剂注册申报资料要求和批准证明文件格式的公告》（国家食品药品监督管理总局公告 2014 年第 44 号）的相关规定。

申请人应当在原材料质量和生产工艺稳定的前提下，根据申请人产品研制、分析性能评估等结果，依据国家标准、行业标准及有关文献，按照《医疗器械产品技术要求编写指导原则》（国家食品药品监督管理总局通告 2014 年第 9 号）的有关要求，编写产品技术要求。

脑利钠肽/氨基末端脑利钠肽前体检测试剂的产品性能指标应主要包括：外观、溯源性、准确度、检出限、线性、重复性、批间差等。技术要求应不低于 YY/T 1451—2016《脑利钠肽和氨基末端脑利钠肽前体检测试剂（盒）（定量标记免疫分析法）》的要求。

（十）产品注册检验报告

根据《体外诊断试剂注册申报资料要求和批准证明文件格式》要求，注册检验报告及产品技术要求预评价意见应由具有相

应医疗器械检验资质和承检范围的医疗器械检验机构出具。

目前，脑利钠肽/氨基末端脑利钠肽前体检测试剂尚无适用的国家参考品/标准品，可采用企业参考品进行注册检验，但企业参考品的具体信息应明确。如有适用的国家参考品/标准品发布，则申请人应采用国家参考品/标准品进行注册检验，并在产品技术要求中写明相应内容。

（十一）产品说明书

说明书承载了产品预期用途、样本采集及处理、检验方法、检验结果的解释以及注意事项等重要信息，是指导实验室工作人员正确操作、临床医生针对检验结果给出合理医学解释的重要依据，因此，产品说明书是体外诊断试剂注册申报最重要的文件之一。产品说明书格式应符合《体外诊断试剂说明书编写指导原则》（国家食品药品监督管理总局通告 2014 年第 17 号）的要求，境外产品的中文说明书除格式要求外，其内容应尽量保持与原文说明书的一致性，翻译力求准确且符合中文表达习惯。产品说明书的所有内容均应与申请人提交的注册申报资料中的相关研究结果保持一致，如某些内容引用自参考文献，则应以规范格式对此内容进行标注，并单独列明参考文献的相关信息。

结合《体外诊断试剂说明书编写指导原则》的要求，下面对脑利钠肽/氨基末端脑利钠肽前体检测试剂说明书的重点内容进行详细说明，以指导申请人更合理地完成说明书编制。

1. 【产品名称】

1.1 试剂盒名称由三部分组成。被测物质的名称、用途、方法或者原理。被测物质名称应根据相关行业标准以及《全国临床检验操作规程（第 4 版）》相应物质名称编写，检验的方法或者

原理应明确到细分的具体方法学，如：氨基末端脑利钠肽前体（NT-proBNP）检测试剂（磁微粒化学发光法）。

2. 【包装规格】

如不同包装规格有与之特定对应的机型，应同时明确适用机型。

3. 【预期用途】应至少包括以下几部分内容：

3.1 试剂盒用于定量检测人×××样本中的脑利钠肽/氨基末端脑利钠肽前体。其中，×××应写明适用的样本类型为血清、血浆还是全血，上述内容均应有相应的分析性能评估资料和临床评价资料支持。

3.2 与预期用途相关的临床适应症背景情况，说明相关的临床或实验室诊断方法等。

4. 【检验原理】

应结合产品主要成分详细说明检验原理、方法，必要时可采用图示方法描述。

5. 【主要组成成分】

5.1 说明试剂盒包含组成、数量、浓度或含量等信息。

5.2 建议对所包被抗体的相关信息进行简单介绍。

5.3 对于校准品和质控品（如适用）：

5.3.1 注明校准品的定值及其溯源性，溯源性资料应写明溯源的最高级别（应包括标准物质或参考方法的发布单位及编号）。

5.3.2 应明确说明质控品的生物学来源、活性及其他特性，应明确靶值范围（如靶值范围为批特异，可注明批特异，并附单独的靶值单）。

5.4 应明确说明不同批号试剂盒中各组分是否可以互换，如

可互换，则需提供相应的性能验证资料。

5.5 对于非试剂组分，如试验用耗材（封板膜、自封袋）、质量控制证书、赋值表（靶值单）、校准卡等，应注明相关信息。

6. 【储存条件及有效期】

6.1 对试剂的实时稳定性、开瓶稳定性（如适用）、复溶稳定性（如适用）、冻融次数限制（如适用）等信息作详细介绍。包括环境温湿度、避光条件等。

6.2 不同组分保存条件及有效期不同时，应分别说明，产品总有效期以其中效期最短的为准。

注：保存条件不应有模糊表述，如“常温”“室温”。

6.3 生产日期、使用期限或失效日期（可见标签）。

7. 【适用仪器】

7.1 如适用仪器为酶标仪则需给出对酶标仪配置的要求。

7.2 如适用仪器为非通用的仪器则需写明具体适用仪器的型号，不能泛指某一系列仪器，并且与分析性能评估资料一致。

8. 【样本要求】重点明确以下内容：

8.1 样本收集要求：样本中的 **BNP** 在血液中各种酶的作用下较易分解，因此应对样本收集方式提出要求。

8.2 血液样本应当说明对采血管及抗凝剂的要求：明确样本类型、采血管材质和抗凝剂。有关描述均应建立在相关性能评价及稳定性研究的基础上。

8.3 样本处理、运送及保存：对血液样本离心条件的要求，冷藏/冷冻样本检测前是否需恢复至室温，冻融次数的要求。

9. 【检验方法】详细说明试验操作的各个步骤

9.1 试验环境：温、湿度条件及样本复温等要求。

9.2 试剂使用方法、注意事项，试剂开封后注意事项等。

9.3 待测样本的预处理方法、步骤及注意事项。

9.4 明确样本检测的操作步骤。

9.5 校准：校准品的使用方法、注意事项、校准曲线的绘制方法。对需专用仪器的产品，应注明推荐的仪器校准周期。

9.6 质量控制：质控品的使用方法、对质控结果的必要解释以及推荐的质控周期等。

9.7 结果计算：对于手工/半自动仪器，说明校准曲线拟合方式及结果计算方法。

10. 【参考区间】

应按照不同性别、年龄，分别说明常用样本类型的参考区间，并简要说明参考区间的确定方法。建议注明“由于地理、人种、性别和年龄等差异，建议各实验室建立自己的参考区间”。

11. 【检验结果的解释】

结合质控品对所有可能出现的结果进行合理的解释。本试剂的检测结果仅供临床参考，不能单独作为确诊或排除病例的依据，对患者的临床诊治应结合其症状/体征、病史、其他实验室检查及治疗反应等情况综合考虑。明确有可能存在的数值升高因素及数值降低因素，明确说明对何种条件下需要进行确认试验，以及在确认试验时对待测样本可能采取的优化条件等进行详述。

如样本浓度超出线性范围后，应明确最大可稀释倍数及稀释液种类，并提供相应的支持性研究资料。

12. 【检验方法局限性】至少应包括以下内容：

12.1 本试剂的检测结果仅供参考，不能单独作为确诊或排除病例的依据，对患者的临床管理应结合其症状/体征、病史、其

他实验室检查及治疗反应等情况综合考虑。

12.2 已知 NT-proBNP 主要通过肾脏代谢，有肾病的患者可能会出现 NT-proBNP 升高的现象，需要进行鉴别诊断。

12.3 已知 BNP 及 NT-proBNP 参考值受到年龄因素的影响，对于老年人检测时应考虑年龄因素判定结果。

12.4 患有急性心肌梗塞的病人、肾脏透析病人和已经进行过肾透析的病人的利钠肽的浓度可能会升高。（NT-proBNP 适用）。

12.5 患者的样本中可能含有异嗜性抗体，这些抗体会干扰免疫试验，导致结果假性升高或下降。

12.6 干扰物质及钩状效应（HOOK 效应，如适用）对检测结果的影响。明确干扰物对测定的影响，同时列出干扰物的具体浓度，不应使用模糊的描述方式。

13. 【产品性能指标】详述以下性能指标：

至少应包括：准确度、检出限、线性、重复性、批间差。

14. 【注意事项】应至少包括以下内容：

14.1 如使用冰箱中冷藏保存的检测试剂建议检测前应从冰箱内取出，放置到室温再打开使用，否则会影响检测结果。

14.2 有关试验操作、样本保存及处理等其他注意事项。

14.3 采用不同方法学的试剂检测所得结果不应直接相互比较，以免造成错误的医学解释，建议实验室在发给临床医生的检测报告中注明所用试剂特征（如参考区间或方法学）。

14.4 有关人源组分（如有）的警告，如：试剂内质控品或其他可能含有人源物质的组分，虽已经通过了 HBsAg、HIV1/2-Ab、HCV-Ab 等项目的检测，但截至目前，没有任何一项检测可以确保绝对安全，故仍应将这些组分作为潜在传染源对待。提示对于

潜在传染源的处理方式。

14.5 对所有样本和反应废弃物都视为传染源进行处理。

14.6 对于动物源性组分，应给出具有潜在感染性的警告。

三、审查关注点

（一）产品原料的选择是影响最终产品的重要因素，脑利钠肽/氨基末端脑利钠肽前体检测试剂通常选用抗 BNP/NT-proBNP 单克隆或多克隆抗体建立起来的免疫学测定方法，应重点关注抗体的制备工艺及纯化方式。

（二）该产品暂无国家标准品，申请人可建立自己的企业参考品，参考品来源应稳定，并明确建立过程。其溯源性应符合 GB/T 21415—2008《体外诊断医疗器械生物样品中量的测量校准品和控制物质赋值的计量学溯源性》的要求。

（三）生产工艺中包被液种类、包被浓度的选取，对产品的反应强弱、本底值、基准值、灵敏度、非特异性均会产生较大影响。在审评过程中应对以上工艺重点关注。

（四）由于 BNP 影响因素较多，对环境温度变化敏感，所选用的抗凝剂种类及采血管材质会对其检验结果的准确度产生影响，建议使用塑料管作为血样采集管，在审评过程中应关注使用环境温度、抗凝剂种类、采血管材质等内容。

（五）在交叉反应物质的选取过程中，应考虑结构类似物的干扰。

（六）有文献显示 BNP 在人体内的半衰期为 22 分钟，体外室温下稳定性为 4 小时，由于各企业的原料选择、工艺过程的不同，BNP 在体外室温稳定性也不尽相同，应重点关注其样本储存、运输的稳定性，并在“样本收集要求”中予以提示。

(七) BNP/NT-proBNP 预期值呈现年龄、性别差异，在临床评估试验对试验人群的选择、参考区间的确立/验证过程中应予以体现。

(八) 说明书中预期用途、储存条件及有效期、检验方法、参考范围、产品性能指标、抗干扰能力等描述应分别与临床研究资料、稳定性研究资料、参考区间研究资料、分析性能评估资料的研究结论相一致。

(九) 审查产品技术要求时应注意产品应符合 YY/T 1451—2016《脑利钠肽和氨基末端脑利钠肽前体检测试剂（盒）（定量标记免疫分析法）》有关规定。

(十) 本指导原则中涉及的“室温（常温）”根据《中国药典》2015年版的解释，系指 10℃—30℃，应与申报资料中所涉及的验证资料相关温度内容对应。

四、名词解释

(一) 准确度 (Accuracy)。一个测量值与可接受的参考值间的一致程度。

(二) 分析特异性 (Analytical Specificity)。测量程序只测量被测量物的能力。用于描述检测程序在样本中有其他物质存在时只测量被测量物的能力。通常以一个被评估的潜在干扰物清单来描述，并给出在特定医学相关浓度值水平的分析干扰程度（潜在干扰物包括干扰物和交叉反应物）。

(三) 线性 (Linearity)。在给定测量范围内，给出的测量结果与样本中实际存在的被测量物的值成比例的能力。线性是描述一个测量系统的测量示值或测量结果相关于样本的赋值符合直线的属性。

(四) 精密度 (Precision)。在规定条件下, 相互独立的测试结果之间的一致程度。精密度的程度是用统计学方法得到的测量不精密度的数字形式表示, 如标准差 (SD) 和变异系数 (CV)。

(五) 检出限。描述一个检验程序以特定置信水平能报告为存在的被测量最低值, 它也被用来指最小可检测浓度。(在给定声称物质中存在某成分的误判概率为 α 时, 声称不存在该成分的误判概率为 β , IUPAC (国际理论化学与应用化学联合会) 建议 α 和 β 默认值等于 0.05)

(六) 待评价系统。拟进行性能评估的产品。

(七) 待测物标准液。待测物与相应的溶剂混合后制备的标准液。

(八) 基础样本。样本与相应的溶剂混合制备成基础样本。

(九) 待回收分析样本。样本与相应的待测物标准液混合制备成待回收分析样本。

五、编写单位

天津市医疗器械技术审评中心。



医课汇
公众号
专业医疗器械资讯平台
WECHAT OF
HLONGMED



hlongmed.com
医疗器械咨询服务
MEDICAL DEVICE
CONSULTING
SERVICES



医课培训平台
医疗器械任职培训
WEB TRAINING
CENTER



医械宝
医疗器械知识平台
KNOWLEDG
ECENTEROF
MEDICAL DEVICE



MDCPP.COM
医械云专业平台
KNOWLEDG
ECENTEROF MEDICAL
DEVICE